钙敏感受体降低血压并改善高血压视网膜血管改变

10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0520

赵佳琪[1]，刘薇[1]，唐娜[1]，王腊梅[1]，屈媛媛[2]，席冬梅[1]，钟华[1]，何芳[1*]

基金项目：国家自然科学基金项目（31960187）；中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目（2020-PT330-003）

1. 832002 新疆维吾尔族自治区石河子市，石河子大学医学院病理生理教研室/新疆地方病与民族病教育部重点实验室/国家卫生健康委中亚高发病防治重点实验室 2. 832002 新疆维吾尔族自治区石河子市，石河子大学医学院第一附属医院呼吸内科

*通信作者：何芳，教授；E-mail：fangf2002shz@126.com

【摘要】 **背景** 尽管临床及基础实验中已关注到钙敏感受体在高血压疾病中的作用和机制，但其在高血压视网膜疾病中的作用和机制仍缺乏相关研究。**目的** 探讨钙敏感受体（CaSR）在高血压视网膜中的表达水平以及与高血压心肌重塑与视网膜血管改变的关系。**方法** 选取 15 只 8 周龄同源健康正常血压大鼠（WKY）作为正常血压（WKY）组，30 只同周龄的自发性高血压大鼠（SHR）随机分为高血压（SHR）组及抑制剂（SHR+NPS2143）组。SHR+NPS2143 组腹腔注射 CaSR 抑制剂 NPS2143。通过无创血压仪监测大鼠血压。通过苏木精和伊红染色（HE）检测视网膜病理变化。通过马松染色（Masson）观察大鼠心肌胶原沉积。通过免疫组织化学染色、实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）观察 CaSR 和血管内皮生长因子 A（VEGFA）在视网膜的分布和表达。**结果** 与 8W、24W WKY 相比，同周龄 SHR 组血压升高（$P < 0.05$），视网膜结构紊乱，厚度增加（$P < 0.05$），且网膜中 CaSR 表达水平降低，VEGFA 表达水平升高（$P < 0.05$），NPS2143 干预至 24W 时可明显升高 SHR 血压（$P < 0.05$），视网膜结构紊乱加重，厚度显著增加（$P < 0.05$），且网膜中 CaSR 表达进一步减少，VEGFA 表达进一步升高（$P < 0.05$）。与同周龄 WKY 相比，8W SHR 组 HW/BW%、LVW/BW%无统计学差异，心肌胶原堆积未见显著增加（$P > 0.05$），24W SHR 组比重升高，心肌胶原堆积增加，NPS2143 干预至 24W 时可明显升高 SHR 的 HW/BW%、LVW/BW%，明显增加 SHR 的心肌胶原堆积面积（$P < 0.05$）。**结论** CaSR 可以降低血压，改善心肌重塑，通过抑制 VEGFA 表达延缓高血压引起的视网膜血管病变的发生发展。

【关键词】 钙敏感受体；原发性高血压；血管内皮生长因子；视网膜血管；心肌重塑

Calcium-sensitive receptors lower blood pressure and improve retinal vascular changes in hypertension

ZHAO Jiaqi[1], LIU Wei[1], TANG Na[1], WANG Lamei[1], QU Yuanyuan[2], XI Dongmei[1], ZHONG Hua[1], HE Fang[1]*

1. Key Laboratory of Education Ministry of Xinjiang Endemic and Ethnic diseases/NHC Key Laboratory for Prevention and Treatment of Central Asia High Incidence Diseases/Department of Pathophysiology, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832002, China;

2. Department of respiratory medicine, the First Affiliated Hospital of Shihezi University School of Medicine, Shihezi, Xinjiang 832002, China

**Corresponding author：HE Fang，Professor；E-mail：fangf2002shz@126.com*

[Abstract] Background Although clinical and basic experiments have paid attention to the role and mechanism of calcium-sensing receptors in hypertensive diseases, there is still a lack of relevant research on its role and mechanism in hypertensive retinal diseases. **Objectiv**e To investigate the expression levels of calcium-sensitive receptors (CaSR) in the hypertensive retina and the relationship with myocardial remodeling and retinal vascular changes in hypertension. **Methods** Fifteen 8-week-old homologous healthy normotensive rats (WKY) were selected as the normotensive (WKY) group, and 30 same-week-old spontaneously hypertensive rats (SHR) were randomly divided into the hypertensive (SHR) group and the inhibitor (SHR+NPS2143) group. the SHR+NPS2143 group was injected intraperitoneally with the CaSR inhibitor NPS2143. Blood pressure were monitored by non-invasive blood pressure monitor. Retinal pathological changes were detected by hematoxylin and eosin staining (HE). Myocardial collagen deposition was observed by Masson staining. The distribution and expression of CaSR and vascular endothelial growth factor A (VEGFA) in the retina were observed by immunohistochemical

staining and quantitative real-time fluorescence PCR (qRT-PCR). **Results** Compared with 8W and 24W WKY, the SHR group at the same week of age had increased blood pressure ($P < 0.05$), retinal structural disorder, increased thickness ($P < 0.01$), and reduced levels of CaSR expression and increased levels of VEGFA expression in the retina ($P < 0.01$), NPS2143 intervention up to 24W significantly increased SHR blood pressure ($P < 0.05$), retinal structural disorder aggravated with a significant increase in thickness ($P < 0.01$), and a further decrease in CaSR expression and a further increase in VEGFA expression in the retina ($P < 0.01$). Compared with the same week-old WKY, there was no statistical difference in HW/BW% and LVW/BW% in the 8W SHR group, and no significant increase in myocardial collagen accumulation was seen ($P > 0.05$), while HW/BW% and LVW/BW% were elevated and myocardial collagen accumulation was increased in the 24W SHR group, and NPS2143 intervention up to 24W significantly elevated HW/BW% and LVW/BW% in SHR. significantly increased the area of myocardial collagen accumulation in SHR ($P < 0.05$). **Conclusion** CaSR lowers blood pressure, improves myocardial remodeling, and delays the development of hypertension-induced retinal vasculopathy by inhibiting VEGFA expression.

[Key words] Calcium-sensing receptor; Essential hypertension; Vascular endothelial growth factor; Retinal vessels; Myocardial remodeling

高血压是一种常见的心血管疾病，高血压的持续进展可引起心、脑、全身血管系统多个靶器官损害[1]，因此血压的监测对高血压的防控具有重要意义。视网膜血管作为全身唯一可以直接通过肉眼观察的血管，关注其变化对高血压的进展评估具有一定的价值[2]。

钙敏感受体（calcium-sensing receptor，CaSR）是 G 蛋白偶联受体 C 家族的成员之一，存在于甲状旁腺、肾脏、肠道、骨骼等系统中[3]，在感知细胞外钙离子和维持细胞内外 Ca^{2+}稳态的信号通路中起关键作用[4]。本课题组前期研究发现，CaSR 激动剂可有效降低血压，改善心肌重塑[5]。2018 年 CaSR 首次在大鼠视网膜中被发现，并证明 CaSR 的表达降低与糖尿病视网膜病变发生有关[6]，但 CaSR 在高血压视网膜血管中的影响尚未见报道。

血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）是诱导血管生成的重要细胞因子，与高血压有着密切联系[7]。临床上局部注射抗 VEGF 药物（如雷珠单抗，阿柏西普），可减少高血压性视网膜新生血管的生成。但大多数人对此治疗会产生抵抗力，治疗效果不佳，同时抗 VEGF 药物也可引起血管收缩与舒张功能失衡，导致全身血压升高[8]。在多项研究中发现，CaSR 可与 VEGF 共同参与心血管疾病的发展[9-11]。故本研究通过探究 CaSR 在高血压大鼠心脏与视网膜血管中的作用，分析 CaSR 与 VEGF 在高血压视网膜血管病变中的关系，以期对高血压及高血压靶器官损害的防治提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物

7 周龄清洁级健康雄性自发性高血压大鼠（spontaneously hypertensive rats，SHR）及同源相同周龄正常血压大鼠（wistar-kyoto rats，WKY）从北京维通利华实验动物有限责任公司购买（许可证编号： SCXK 京 2021-0006），体重约 180g。实验经石河子大学医学院第一附属医院医学伦理委员会批准，批准号：A2020-164-01。

大鼠喂养的环境和条件：在通风良好的房间内，光照与黑暗时间为 12h/12h，房间内温度控制在 22℃左右，湿度保持在 50%左右。喂养环境安静整洁，避免嘈杂。在饲养的过程中，要确保大鼠饮水、饮食自由充足，将所有大鼠按照不同的分组放置在不同的鼠笼中进行饲养。

1.2 主要试剂和仪器

NPS2143（美国 R&D 公司）；CaSR 单克隆抗体（武汉三鹰公司）；VEGFA 单克隆抗体（武汉博士德公司）；HE 染液（江苏碧云天公司）；DAB 显色剂（北京中山金桥公司）；PCR 引物（上海生工生物工程有限公司）；First Strand cDNA Synthesis Kit（北京全式金公司）；SYBR Green PCR Kit（上海赛默飞世尔科技公司）；DNA marker II（上海赛默飞世尔科技公司）；Trizol Reagent（美国 Invitrogen 公司）；PCR 核酸扩增仪（日本 Takara 公司）；低温超速离心机（美国 Thermo 公司）；OLYMPUS TH4-200 倒置显微镜（日本 SANYO 公司）。

1.3 方法

1.3.1 分组

7 周龄雄性 WKY 及同源相同周龄 SHR 大鼠共 45 只，适应性饲养 1 周以适应环境，随后随机分为 3 组：正常血压（WKY）组（n=15）；高血压（SHR）组（n=15）；抑制剂（SHR+NPS2143）组（n=15）。其中 SHR+NPS2143 组将 CaSR 抑制剂 NPS2143 以 4.5 mg/kg d 剂量给予腹腔注射，WKY 组和 SHR 组注射等量生理盐水。

1.3.2 取材

眼球：分别在持续干预 0 周（8 周龄）、8 周（16 周龄）和 16 周（24 周龄）时每组随机选取 5 只大鼠，麻醉后处死大鼠，快速摘出左眼并于 1×PBS 缓冲液中稍加清洗，浸没于 4%多聚甲醛溶液中，4 ℃保存用于制作病理切片。摘出右眼于 1×PBS 缓冲液清洗后，置于装有 4%多聚甲醛溶液的培养皿中固定 90 分钟后，1×PBS 缓冲液反复清洗后，移至立式显微镜下。眼科有齿镊夹住视神经断端，固定眼球，用角膜剪沿角巩膜缘剪下角膜。用镊子将晶状体挑出后，用 1×PBS 缓冲液冲洗剩余眼球内壁，去除残留玻璃体后，用镊子将视网膜完整剥离下来后转移至 EP 管，标记后-80 ℃冰箱保存。

心脏：分别在持续干预 0 周（8 周龄）、8 周（16 周龄）和 16 周（24 周龄）时每组随机选取 5 只大鼠，麻醉后处死大鼠，用组织剪剪开胸骨，露出心脏。迅速取出心脏，分离出左心室，称重并记录，计算心脏/体重（HW/BW%）和左心室/体重（LVW/BW%）。后将心肌组织洗净后包裹在锡箔纸中，储存在-80 ℃冰箱中，以便日后检测目标蛋白。

1.3.3 血压测量

用 Softron BP-98A（SOFTRON，日本）大鼠尾部无创血压计测量各组大鼠尾部动脉的收缩压（systolic blood pressure，SBP）和舒张压（diastolic blood pressure，DBP），用公式计算平均动脉压（mean arterial pressure，MAP）（MAP=1/3（3×DBP＋SBP-DBP））。室温下，将大鼠固定在大鼠箱中，尾根放置并固定在血压计的充气尾套中，每只大鼠重复测量三次，并取平均值。

1.3.4 Masson 染色

心肌组织于 4%多聚甲醛缓冲液中固定 24 h。梯度酒精脱水后石蜡包埋切片，切片厚 5 μm。用 Masson 染色，显微镜下观察。随机选取每个组织的 3 个显微镜场并摄片（×400 放大率），使用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析计算胶原面积。摘除的各组大鼠眼球于 4%多聚甲醛溶液中固定 24 h 后，石蜡包埋切片，切片厚 5 μm。用伊红-苏木素染色，显微镜下观察视网膜结构变化，随机选取每个组织的 3 个显微镜场并摄片（×400 放大率），

1.3.5 HE 染色

摘除的各组大鼠眼球于 4%多聚甲醛溶液中固定 24 h 后，石蜡包埋切片，切片厚 5 μm。用伊红-苏木素染色，显微镜下观察视网膜结构变化，随机选取每个组织的 3 个显微镜场并摄片（×400 放大率），用 Image J 软件测量视网膜各层厚度。

1.3.6 免疫组织化学染色

切片去石蜡后，高压抗原修复 10min，内源性过氧化物酶抑制剂室温 10min，而后将视网膜切片与抗 CaSR 的一级大鼠单克隆抗体（1:50）、抗 VEGFA 的一级大鼠单克隆抗体（1:50）在 4℃下孵育过夜。次日 PBS 缓冲液冲洗 3 遍后，将切片与辣根过氧化物酶结合的二抗在 37℃下孵育半小时。冲洗后滴加 DAB 溶液显色，紫木苏复染，脱水封片。显微镜下观察并摄片（×400 放大率）。

1.3.7 实时荧光定量聚合酶链式反应（qRT- PCR）

从 24 周龄各组的视网膜组织中提取总 RNA，NanoDrop 2000 超微量分光光度计测量总 RNA 的浓度和纯度。使并根据制造商的手册将 3mg 总 RNA 逆转录为 cDNA。qRT- PCR 在包含 SYBR Green/Fluorescein qPCR Master Mix、正向引物、反向引物和 cDNA 的反应体系（20 μL）中进行。基因的相对表达量与 GAPDH（内部参考基因）进行了归一化。采用 ABI7500 实时 PCR 系统进行操作。CaSR、VEGFA 和 GAPDH 的引物来自上海生工生物工程有限公司，引物序列如表 1 所示。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列（5’-3’）

GAPDH	F: GACATGCCGCCTGGAGAAAC
	R: AGCCCAGGATGCCCTTTAGT
VEGFA	F: CCCTGGCTTTACTGCTGTACC
	R: CTTCATGGGCTTTCTGCTCCC
CaSR	F: ACGAGCCTCAGAAGAATGCC
	R: TCCGCATCTGCACACTGTAG

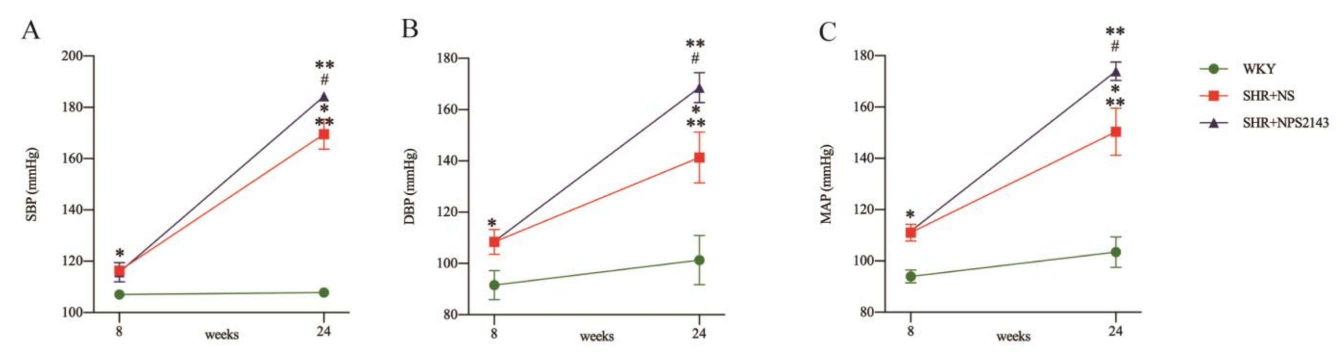
1.4 统计学分析

采用 SPSS 24.0 软件进行统计分析，实验所得数据以均数±标准差（$\bar{x}$±S）表示。多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较时，若方差齐时，采用 SNK 检验；若方差不齐时，采用 Dunnett-t3 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CaSR 对大鼠血压的影响

与 8W、24W WKY 相比，同周龄 SHR 组 SBP, DBP 及 MAP 升高（$P < 0.05$），且 24W 时较 8W 升高更为显著（$P < 0.05$），NPS2143 干预至 24W 时可明显升高 SHR 的 SBP，DBP 和 MAP（$P < 0.05$）（图 1）。



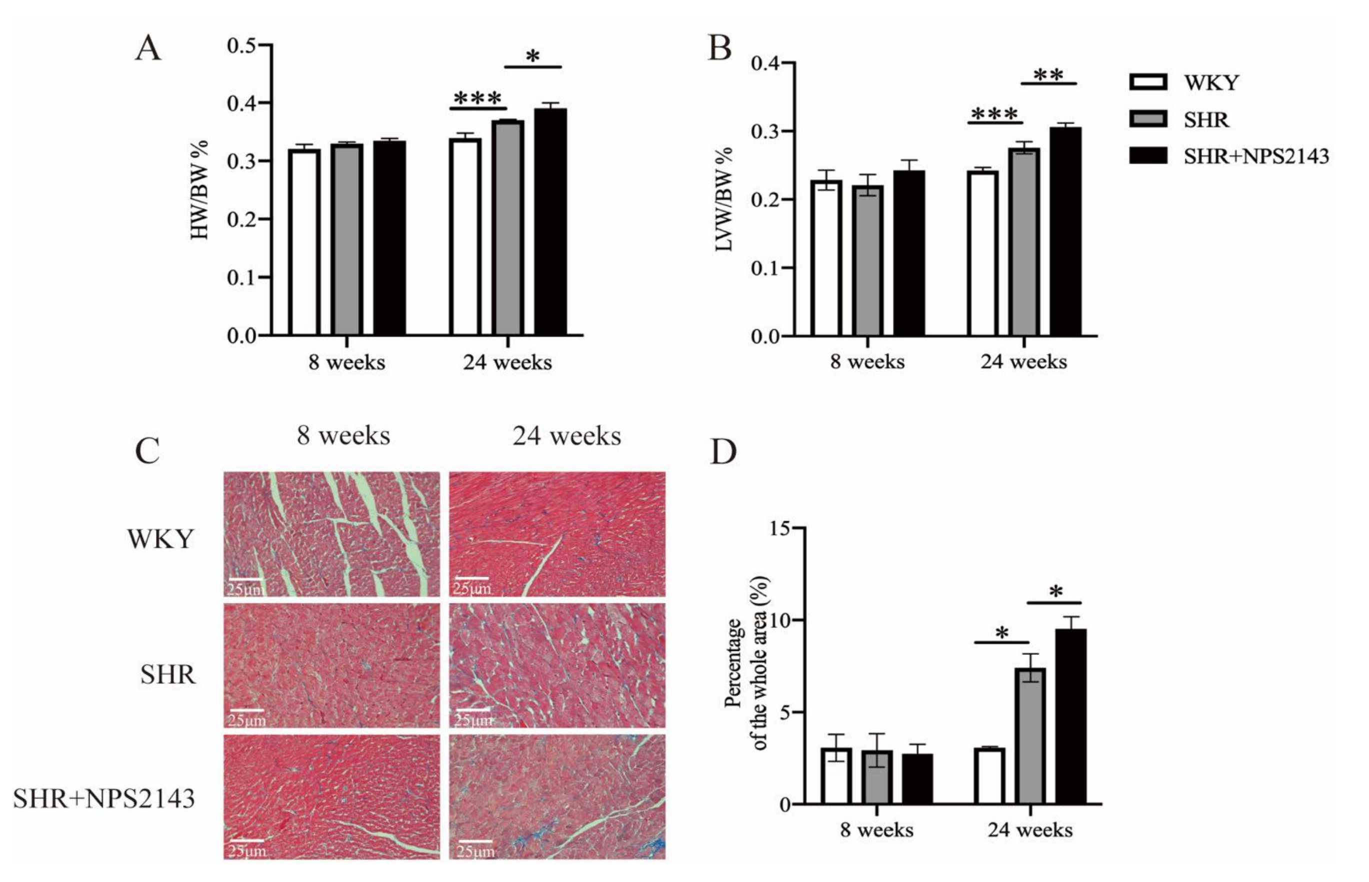
注：A：SBP；B：DBP；C：MAP。*P<0.05，SHR 组 *vs* 同周龄 WKY 组；**P<0.05，24 周龄各组 *vs* 8 周龄各组；$^{\#}P$<0.05，SHR+NPS2143 组 *vs* 同周龄 SHR 组。

图 1 CaSR 对大鼠血压的影响

Figure 1 Effect of CaSR on blood pressure in rats

2.2 CaSR 对大鼠心肌重塑的影响

与同周龄 WKY 相比，8W SHR 组 HW/BW%、LVW/BW%无统计学差异（$P > 0.05$），24W SHR 组 HW/BW%、LVW/BW% 显著升高（$P < 0.05$），NPS2143 干预至 24W 时可明显升高 SHR 的 HW/BW%、LVW/BW%（$P < 0.05$）；Masson 染色结果显示：与同周龄 WKY 相比，8W SHR 组心肌胶原堆积未见显著增加（$P > 0.05$），24W SHR 组心肌胶原堆积显著升高（$P < 0.05$），NPS2143 干预至 24W 时可明显增加 SHR 的心肌胶原堆积面积（$P < 0.05$）（图 2）。



注：A：HW/BW%；B：LVW/BW%；C：心肌组织马松染色图像（×400）；D：C 的定量分析。*P<0.05；**P<0.01；***P<0.001。

图 2 CaSR 对大鼠心肌重塑的影响

Figure 2 Effect of CaSR on myocardial remodeling in rats

2.3 大鼠视网膜结构变化

8W、24W SHR 组视网膜各层排列不规则，其中内界膜不规则较为明显，神经纤维层疏松，而 SHR+NPS2143 组以上改变更加明显。与 WKY 组相比，各周龄 SHR 组视网膜总厚度均增加（$P < 0.05$），且 24W 较 8W 增厚更明显（$P < 0.05$），8W 时 SHR 组视网膜增厚以内丛状层增厚为主（$P < 0.05$），24W 时 SHR 组内丛状层与内核层均增厚（$P < 0.05$），NPS2143 干预至 24W 时 SHR 的视网膜总厚度显著增加（$P < 0.05$），且内丛状层与内核层均增厚（$P < 0.05$）（表 2-4，图 3）。

表 2 各组大鼠视网膜总厚度比较（$\bar{x}\pm S$，n=15，μm）

Table 2 Comparison of total retinal thickness of rats in each group

分组	8 weeks	24 weeks	t 值	p 值
WKY	56.08±4.69	95.01±1.36**	14.430	0.000
SHR	72.18±9.02*	112.89±8.69*,**	12.290	0.000
SHR+NPS2143	70.63±2.63	193.24±29.15**,#	36.670	0.000

注：*P<0.05，SHR 组 *vs* 同周龄 WKY 组；**P<0.05，24 周龄各组 *vs* 8 周龄各组；#P<0.05，SHR+NPS2143 组 *vs* 同周龄 SHR 组。

表 3 各组大鼠视网膜内丛状层厚度比较（$\bar{x}\pm S$，n=15，μm）

Table 3 Comparison of intraretinal plexiform layer thickness of rats in each group

分组	8 weeks	24 weeks	t 值	p 值
WKY	12.59±1.99	22.23±1.69**	4.544	0.001
SHR	19.76±0.51*	33.94±3.16*,**	6.744	0.000
SHR+NPS2143	19.33±0.58	55.33±9.95**,#	17.120	0.000

注：$^*P$<0.05，SHR 组 *vs* 同周龄 WKY 组；$^{**}P$<0.05，24 周龄各组 *vs* 8 周龄各组；$^{\#}P$<0.05，SHR+NPS2143 组 *vs* 同周龄 SHR 组。

表 4 各组大鼠视网膜内核层厚度比较（$\bar{x}$±S，n=15，μm）

Table 4 Comparison of inner retinal layer thickness of rats in each group

分组	8 weeks	24 weeks	*t* 值	*p* 值
WKY	5.81±0.63	12.09±1.21**	6.650	0.000
SHR	7.45±0.57	15.59±1.05*,**	11.180	0.000
SHR+NPS2143	7.87±0.96	25.27±2.46**,#	22.810	0.000

注：$^*P$<0.05，SHR 组 *vs* 同周龄 WKY 组；$^{**}P$<0.05，24 周龄各组 *vs* 8 周龄各组；$^{\#}P$<0.05，SHR+NPS2143 组 *vs* 同周龄 SHR 组。

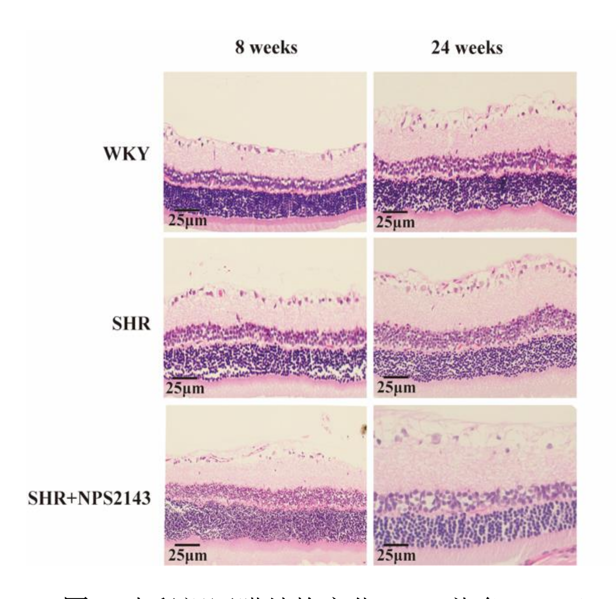
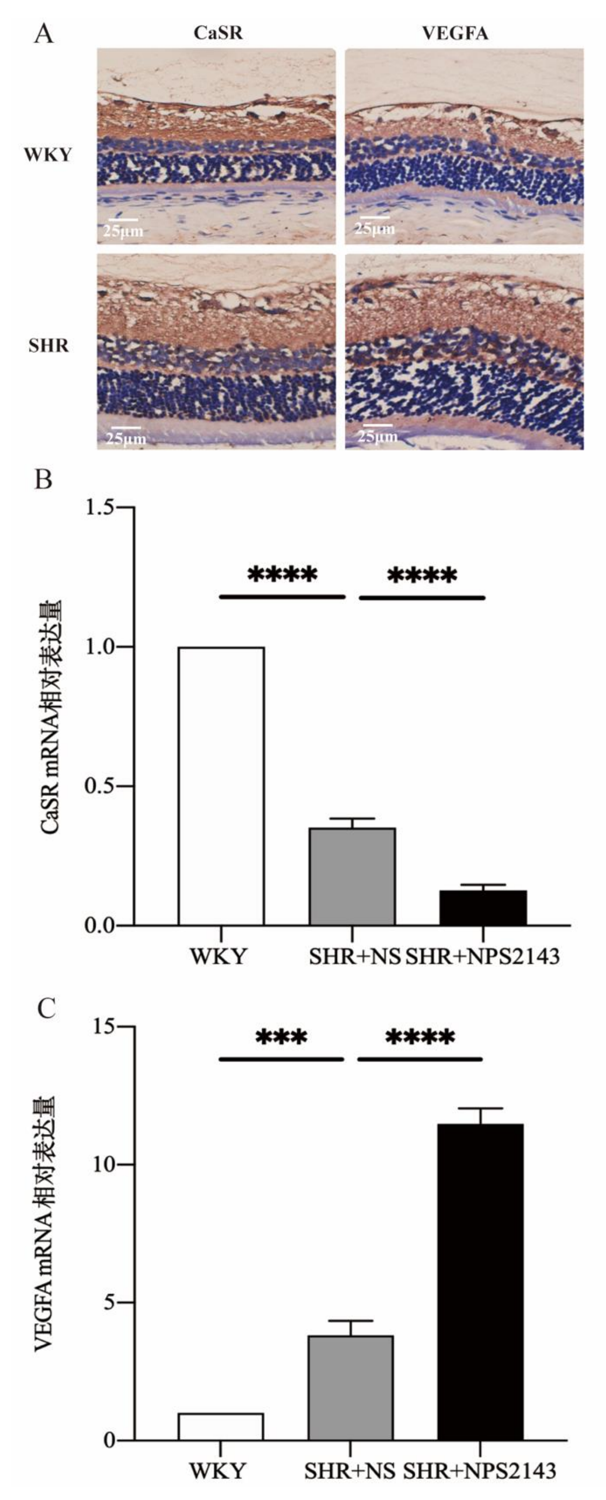


图 3 大鼠视网膜结构变化（HE 染色 ×400）

Figure 3 Structural changes in the rat retina

2.4 大鼠视网膜组织中 CaSR、VEGFA 定位与表达

8W 时，WKY 组 CaSR 免疫阳性产物主要分布于内界膜及神经节细胞层，胞质呈深棕黄色，阳性产物表达较强，SHR 组 CaSR 免疫阳性产物主要分布于少数神经节细胞的胞浆中，阳性产物表达较弱；与之相反的是，WKY 组 VEGFA 免疫阳性产物主要分布于少数神经节细胞的胞浆中，阳性产物表达较弱，SHR 组 VEGFA 免疫阳性主要产物分布于神经节细胞层、内核层及外丛状层，胞质呈深棕黄色，阳性产物表达较强。qRT-PCR 结果显示：与 WKY 组相比，24W SHR 组视网膜中 CaSR 相对表达水平降低（P < 0.05），VEGFA 相对表达水平升高（P < 0.05），NPS2143 干预至 24W 时 SHR 视网膜中 CaSR 相对表达水平降低，VEGFA 相对表达水平升高（P < 0.05）（图 4）。



注： A：视网膜免疫组化染色图像（×400）；B, C：CaSR, VEGFA 的 mRNA 定量分析。****P*<0.001；*****P*<0.0001。

图 4 大鼠视网膜组织中 CaSR、VEGFA 定位与表达

Figure 4 Localization and expression of CaSR and VEGFA in retinal tissues

3 讨论

长期高血压控制不良可造成心脏结构发生变化，包括左心室舒张功能障碍、左心室肥厚、心肌收缩功能障碍，最终引发心力衰竭。相较于血压正常的患者，光学相干断层扫描（OCT）检查观察到高血压患者的视网膜多层结构反射不平整，厚度增厚[12]。临床上对于高血压引起的靶器官损害主要以全身降压，营养神经，辅以局部注药，但疗效并不显著。

CaSR 通过调节多种信号途径发挥生物学效应，参与高血压的发生发展。激活 CaSR，可以抑制肾素的分泌，进而降低血管紧张素Ⅱ（Angiotensin Ⅱ，Ang Ⅱ）和醛固酮的水平，使血压降低[13]。而 CaSR 介导的多种功能主要与亲水的细胞外结构（ECD）有关，其除了能与多价阳离子（如 Ca^{2+}，Mg^{2+}，Gd^{3+}等）[14]、多胺类（如精胺等）及某

些抗生素（如新霉素等）直接结合外，也受到别构激动剂（西那卡塞、calindol）和别构抑制剂（NPS2143 和 Calhex-231）的影响[15]。为了探究 CaSR 在高血压心肌重塑及视网膜血管病变的作用，我们通过建立自发性高血压大鼠模型并给予 CaSR 别构抑制剂 NPS2143 来加以证明，结果发现高血压大鼠血压升高，视网膜中 CaSR 表达减少，视网膜结构紊乱，总厚度增加，给予 NPS2143 处理后，高血压大鼠血压进一步升高，视网膜中 CaSR 含量减少，视网膜结构紊乱加重， 提示高血压引起的视网膜血管病变与 CaSR 表达降低有关，而在 8W 时，与正常血压大鼠相比，高血压大鼠 HW/BW%、LVW/BW%未见明显改变，也无明显心肌胶原沉积，至 24W 时，高血压大鼠 HW/BW%、LVW/BW%显著升高，心肌胶原沉积增加，给予 NPS2143 干预加重了心肌纤维化程度。由于心肌肥厚早期的可逆转性，高血压患者发现左心室肥厚之后，积极有效的降血压治疗可以最大限度的延缓病情进展，降低并发症的发生率[2]。而高血压视网膜结构改变早于心肌病变，提示可以通过视网膜血管检查评估高血压心肌重塑状态，且视网膜检查相较心脏检查更为简单易行，便于基层及社区医院的开展，也极大提高了患者尤其是高龄患者的医从性，有助于高血压的筛查及早期防控，延缓高血压引起的心功能不全，降低意外与病死率。

早期研究中被发现，当患者发生高血压时，血清中 VEGF 表达水平升高[16]。研究指出 VEGF 可通过提高电压依赖性钙通道的激活电压，减少细胞外钙离子进入细胞内[17]，可刺激血管生成[18]。哺乳动物的 VEGF 家族由五种糖蛋白组成：VEGFA、VEGFB、VEGFC、VEGFD 和胎盘生长因子[19]，其中 VEGFA 是血管生成的关键媒介，通过与血管内皮细胞上表达的 VEGF 受体-1（VEGFR-1）和 VEGF 受体-2（VEGFR-2）结合，影响血管通透性和血管新生[9]。本研究发现，高血压大鼠视网膜中 VEGFA 表达增加。临床上将抗 VEGF 单克隆抗体作为血管生成抑制剂，通过阻断 VEGF 改善视网膜缺血和缺氧，抗 VEGF 治疗已被推荐为视网膜静脉阻塞（RVO）的一线治疗方法 [20,21]。然而大多数人最终会对目前的血管生成抑制剂疗法产生抵抗力，减弱治疗效果，因此提出通过应用 G 蛋白偶联受体可以降低 VEGF 抑制剂的耐药性[22]。在使用了 CaSR 抑制剂 NPS2143 处理后，高血压大鼠视网膜中 CaSR 进一步减少，VEGFA 表达明显增加。提示 CaSR 抑制剂通过减少 CaSR 活化，加重 VEGF 的作用，进而加剧高血压视网膜缺血缺氧的发生。提示临床中可通过拟钙剂与 VEGF 抑制剂的联合应用，在降低血压的同时，降低机体对 VEGF 抑制剂的抵抗力，加强药物在高血压中的治疗效果。

综上所述，通过应用 CaSR 抑制剂，减少 CaSR 活化，使细胞内外钙离子浓度失调，加重 VEGF 引起的新生血管生成，加剧高血压引起的心肌重塑与视网膜血管病变的发展，且视网膜血管病变发生早于心脏，这也为临床高血压及其引起的靶器官损害的早期防控提供了新思路。但本研究也存在一定的不足，CaSR 激活后可降低 VEGFA 表达，但其在眼压上作用上因实验仪器的局限未能加以证明，这有待后续继续研究。

作者贡献：赵佳琪提出研究选题方向，进行文章的构思与设计，负责数据收集和统计学分析；赵佳琪、刘薇、唐娜、王腊梅负责撰写论文初稿和论文修订；刘薇、唐娜、屈媛媛、席冬梅负责数据收集、统计学分析、绘制图表；钟华、何芳进行数据复核，负责文章的质量控制及审校，对文章整体负责；所有作者确认了论文的最终稿。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] THOMAS U, CLAUDIO B, FADI C, et al. 2020 International society of hypertension global hypertension practice guidelines [J]. J hypertens, 2020, 38 (6): 982-1004. DOI: 10.1097/HJH.0000000000002453.

[2] 陶相宜, 董志军, 董微丽. 高血压性视网膜病变与高血压靶器官损害的相关关系分析 [J] . 河北医药, 2017, 39 (13): 2004-2007. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2017.13.024.

TAO X Y, DONG Z J, DONG W L. Analysis of the correlation between hypertensive retinopathy and hypertensive target organ damage [J]. Hebei Med J, 2017, 39 (13): 2004-2007. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2017.13.024.

[3] BENEDETTO D P, RUSCITTI P, VADASZ Z, et al. Macrophages with regulatory functions, a possible new therapeutic perspective in autoimmune diseases [J]. Autoimmun Rev, 2019, 18 (10): 102369. DOI: 10.1016/j.autrev.2019.102369.

[4] TAN R S G, LEE C H L, DIMKE H, et al. The role of calcium-sensing receptor signaling in regulating transepithelial calcium transport [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2021, 0: 1-13. DOI: 10.1177/15353702211010415.

[5] ZHANG T, TANG N, XI D, et al. Calcimimetic R568 improved cardiac remodeling by classic and novel renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2019, 244 (10): 789-801. DOI: 10.1177/1535370219854325.

[6] JIANG P, HUANG R, MA N, et al. The Expression of calcium sensing receptor in normal and diabetic rat eyes [J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 706-710. DOI: 10.12659/msm.905657.

[7] ABDEL R E-N, DALIA Z, MOHAMMED E, et al. The role of vildagliptin in treating hypertension through modulating serum VEGF in diabetic hypertensive patients [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2019, 24 (3): 254-261. DOI: 10.1177/1074248418817345.

[8] 董志超, 吕海辰. 血管内皮生长因子信号通路抑制剂相关高血压研究进展[J]. 大连医科大学学报, 2022, 44 (01): 1-8.

DONG Z C, LV H C. Advances in the study of hypertension associated with inhibitors of vascular endothelial growth factor signaling pathway [J]. J Dalian Med Uni, 2022, 44 (01): 1-8.

[9] YAMAMURA A, NAYEEM M J, SATO M. Roles of growth factors on vascular remodeling in pulmonary hypertension [J]. Folia Pharmacol Jap, 2021, 156 (3): 161-165. DOI: 10.1254/fpj.21006.

[10] 王秀力, 姜世强, 刘颖, 等. 慢病毒介导 Wnt 蛋白 5A 基因过表达对骨髓间充质干细胞移植治疗心肌梗死大鼠的影响 [J].中华实验外科杂志, 2021, 38 (09): 1720-1723.

WANG X L, JIANG S Q, LIU Y, et al. Effect of lentivirus-mediated Wnt protein 5A gene overexpression on myocardial infarction in rats treated with bone marrow mesenchymal stem cell transplantation [J]. Chin J Exp Surg, 2021, 38 (09): 1720-1723.

[11] ZHANG Y, YIN W H, YANG F, et al. VEGF121 mediates post-hypoxia cardioprotective effects via CaSR and mitochondria-dependent protease pathway [J]. Arq Bras Cardiol, 2021, 117 (3): 476-483. DOI: 10.36660/abc.20190902.

[12] 刘银和, 蒋自培, 董海曙, 等. □级高血压性视网膜病变黄斑区 OCT 及血管成像特征 [J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2021, 23 (10): 736-744.

LIU Y H, JIANG Z P, DONG H S, et al. OCT and angiographic features of macular area in grade III hypertensive retinopathy [J]. Ophthalmol Visual Sci, 2021, 23 (10): 736-744.

[13] MAILLARD M P, TEDJANI A, PERREGAUX C, et al. Calcium-sensing receptors modulate renin release in vivo and in vitro in the rat [J]. J Hypertens, 2009, 27 (10): 1980-1987. DOI: 10.3760/cma.j.cn115909-20210526-00216.

[14] HUANG Y, ZHOU Y B, YANG W, et al. Identification and dissection of Ca^{2+}-binding sites in the extracellular domain of Ca^{2+}-sensing receptor [J]. The J Biol Chem, 2007, 282 (26): 19000-19010. DOI: 10.1097/HJH.0b013e32832f0d22.

[15] WIDLER L, ALTMANN E, BEERLI R, et al. 1-Alkyl-4-phenyl-6-alkoxy-1H-quinazolin-2-ones: a novel series of potent calcium-sensing receptor antagonists [J]. J Med Chem, 2010, 53 (5): 2250-2263. DOI: 10.1074/jbc.M701096200.

[16] WANG Y H, ZHANG X Y, HAN Y Q, et al. Efficacy of combined medication of nifedipine and magnesium sulfate on gestational hypertension and the effect on PAPP-A, VEGF, NO, Hcy and vWF [J]. Saudi J Biol Sci, 2019, 26 (8): 2043-2047. DOI: 10.1021/jm901811v.

[17] MA Y Y, LI K Y, WANG J J, et al. Vascular endothelial growth factor acutely reduces calcium influx via inhibition of the Ca^{2+} channels in rat hippocampal neurons [J]. J Neurosci Res, 2009, 87 (2): 393-402. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.08.012.

[18] MOCCIA F. Calcium signaling in endothelial colony forming cells in health and disease [J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1131: 1013-1030. DOI: 10.1002/jnr.21859.

[19] OH M, RHO S B, SON C, et al. Nonproteolytic calpain-6 interacts with VEGFA and promotes angiogenesis by increasing VEGF secretion [J]. Sci Rep, 2019, 9 (1): 15771. DOI: 10.1007/978-3-030-12457-1_40. 10.1038/s41388-020-01444-3

[20] CAMPOCHIARO P A, BHISITKUL R B, SHAPIRO H, et al. Vascular endothelial growth factor promotes progressive

retinal nonperfusion in patients with retinal vein occlusion [J]. Ophthalmology, 2013, 120 (4): 795-802. DOI: 10.1038/s41598-019-52364-6.

[21] CAMPOCHIARO P A, WYKOFF C C, SHAPIRO H, et al. Neutralization of vascular endothelial growth factor slows progression of retinal nonperfusion in patients with diabetic macular edema [J]. Ophthalmology, 2014, 121 (9): 1783-1789. DOI: 10.1016/j.ophtha.2012.09.032.

[22] AZAD A K, ZHABYEYEV P, VANHAESEBROECK B, et al. Inactivation of endothelial cell phosphoinositide 3-kinase β inhibits tumor angiogenesis and tumor growth [J]. Oncogene, 2020, 39 (41): 6480-6492. DOI: 10.1016/j.ophtha.2014.03.021.